

Poznań, 1.02.2022

Prof. dr hab. n. med. Anna Markowska
Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych
Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Roberta Kiełbasińskiego pt.
*Zmiany wzorca ekspresji genów kodujących wybrane adipokiny i czynniki
prozapalne w raku endometrium.***

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. med. Roberta Kiełbasińskiego zawarta jest na 87 stronach i podzielona na konwencjonalnie przyjęte rozdziały.

We wstępie omówione zostały epidemiologia i etiologia, objawy kliniczne, stopnie zaawansowania oraz cechy histopatologiczne raka endometrium. Dalej Doktorant opisuje modele *in vitro* wykorzystywane w badaniach nad rakiem endometrium, czynniki prozapalne mające znaczenie w procesach nowotworzenia, w tym głównie cytokiny oraz omawia ścieżki sygnałowania związane z karcynogenezą w EC z dobrą znajomością zagadnienia. Koncentruje się na dwóch adipokinach: leptynie i adiponektynie. Prezentowane przez autora na rycinach szlaki sygnałowania zależne od leptyny (w tym MEK, ERK, JAK, STAT, SOCS3), jak i adiponektyny (AMPK, IKK, mTOR) świadczą o szerokiej wiedzy Doktoranta dotyczącej molekularnych procesów w przebiegu raka endometrium, uzasadniając jego wybór tematu rozprawy.

Również omówiony molekularny mechanizm przeciwnowotworowej aktywności cisplatyny - przejrzysto przedstawiony graficznie - wspiera wybór badania Doktoranta nad tym cytostatykiem. Autor cytuje wyniki światowych badań, jak i rekomendacje polskie nad stosowaniem cisplatyny w raku endometrium.

Cel pracy sformułowany jest jasno, a hipotezy badawcze, zwłaszcza oznaczone numerami 2, 3, i 4 są nowym podejściem molekularnym w biologicznej

aktywności cisplatyny, szczególnie jej wpływ na profil ekspresji genów kodujących czynniki prozapalne i adipokiny.

Metody przedstawione w rozprawie prezentują nowoczesną, wysoką jakość badań. Linie raka endometrium Ishikawa były przedmiotem wielu badań - cytowanych przez autora w rozdziale dyskusja - ale autor ocenił żywotność komórek po cytostatyku przy pomocy sulforodaminy B, wiążącej się z resztami aminokwasowymi białek komórkowych, a także oznaczał jakościowo i ilościowo ekstrakty RNA chcąc mieć własny pogląd na dalsze przeprowadzone badania.

Profil ekspresji wybranych czynników prozapalnych i adipokin w hodowli komórkowej po działaniu cisplatyny oznaczany był techniką mikromacierzy oligonukleotydowych. Dla potwierdzenia dokładności zmian obserwowanych w tej technice przeprowadzone zostały analizy półilościowe i następnie ilościowe (odwrotna transkrypcja RTqPCR i łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym). Ponadto w analizie molekularnej stężeń wybranych białek wykonane zostały badania w hodowli kontrolnej.

Analiza statystyczna przeprowadzona została prawidłowo.

Wyniki opracowano przejrzysto i rzetelnie. Cenne uwagi autora dotyczą parametrów oceny działania cisplatyny - efektu, czasu i dawki - co może być podstawą obniżenia dawki tego cytostatyku w przypadkach nasilonych objawów niepożądanych u pacjentek.

Doktorant wykazał, że cisplatyna w komórkach raka endometrium wpływa na obniżenie ekspresji genów leptyny i jej receptorów, co zależne jest od stężenia leku i czasu jego działania.

Druga adipokina – adiponektyna, jak i jej receptory wykazuje pod wpływem cisplatyny nadekspresję. Wartości obliczone przez autora są statystycznie znamienne w porównaniu do grupy kontrolnej.

Cisplatyna spowodowała w hodowli komórek Ishikawa nadekspresję badanych cytokin - TNF α i IL-6 i obniżenie ekspresji STAT3 i JAK2, w sposób istotny statystycznie. Interesującym wynikiem badań jest różnica ocenianych adipokin i cytokin prozapalnych na poziomie mRNA i białka. Świadczy to - jak zauważa Doktorant - że cisplatyna wywiera wpływ na ekspresję badanych adipokin i cytokin prozapalnych poprzez szlak sygnalizacyjny JAK/STAT, ale nie wyklucza się udziału regulacyjnego poprzez mikroRNA, zwłaszcza w odniesieniu do TNF α .

Słusznym spostrzeżeniem Doktoranta jest fakt, że zmiany profilu ekspresji IL-6, TNF α , JAK2 mogą być wykorzystane jako markery monitorowania terapii raka endometrium przy użyciu cisplatyny i mogą stanowić wkład w rozwój terapii celowanych ukierunkowanych na szlak sygnalizacyjny JAK/STAT.

Dyskusja jest mocną stroną rozprawy. Doktorant wykazuje się biegłą znajomością wyników wielu innych badań dotyczących omawianego problemu. Zdaniem Autora wyniki mikromacierzowego profilu ekspresji genów powinny być potwierdzone technikami ilościowymi, np. RTq PCR.

Z dyskusji wynika również, że przedstawione w rozprawie badane czynniki molekularne są istotne dla rozwoju i przebiegu raka endometrium.

Wnioski w liczbie 5 w zupełności odpowiadają na postawiony cel pracy. Piśmiennictwo obejmuje 160 pozycji dobrze dobranych i cytowanych w tekście, co świadczy o szerokiej wiedzy Doktoranta w omawianym temacie.

W podsumowaniu: rozprawa doktorska jest nowatorska, zawiera ocenę ekspresji adipokin i cytokin prozapalnych w raku endometrium pod wpływem standardowo stosowanej cisplatyny w terapii adjuwantowej.

Rozprawa posiada implikacje kliniczne - oznaczane czynniki mogą być biomarkerami oceny przebiegu EC; wydaje się, że mogą być przydatne w przyszłej terapii celowanej tego nowotworu.

Być może, Doktorant powinien w rozprawie wspomnieć o klasyfikacji molekularnej EC (Nature 2013), a także wprowadzić dane epidemiologiczne z roku 2021 (Globocan).

Uwagi te w niczym nie umniejszają wartości opracowania, które spełnia wszystkie kryteria rozprawy doktorskiej. Wnoszę zatem do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lek. med. Roberta Kiełbasińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

3286754 | Prof. dr hab. med. Anna Markowska
SPECJALISTA GINEKOLOG-POŁOŻNIK
GINEKOLOG-ONKOLOG
tel. 802 605 984
Anna Markowska